

Siçanlarda formaldehit uygulamasıyla akciğerlerde oluşan hasar üzerine omega-3 yağ asitlerinin koruyucu etkisi

İsmail ZARARSIZ¹, M. Fatih SÖNMEZ², H. Ramazan YILMAZ³, Hıdır PEKMEZ¹, İlater KUŞ¹, Mustafa SARSILMAZ¹

¹ Fırat Üniversitesi Tıp Fakültesi, Anatomi Anabilim Dalı,

²Fırat Üniversitesi Tıp Fakültesi Histoloji-Embriyoloji Anabilim Dalı, ELAZIĞ

³Süleyman Demirel Üniversitesi Tıbbi Biyoloji ve Genetik Anabilim Dalı, ISPARTA

ÖZET

Bu çalışmada, formaldehitin akciğer dokusu üzerine olan toksik etkileri ve bu toksik etkilere karşı omega-3 yağ asitlerinin koruyucu etkisi histolojik ve biyokimyasal olarak araştırıldı. Bu amaçla, 21 adet Wistar-Albino cinsi erkek siçan üç gruba ayrıldı. Grup I'deki siçanlar kontrol olarak kullanıldı. Grup II'deki siçanlara gün aşırı olarak formaldehit enjekte edildi. Grup III'deki siçanlara ise, formaldehit enjeksiyonu ile birlikte günlük olarak omega-3 yağ asiti verildi. 14 günlük deney süresi sonunda bütün siçanlar dekapitasyon yöntemi ile öldürüldü. Hayvanlardan alınan akciğer doku örnekleri rutin histolojik prosedürler uygulandıktan sonra ışık mikroskopunda incelendi. Ayrıca akciğer doku örneklerinde süperoksit dismutaz (SOD), katalaz (CAT), ksantin oksidaz (XO) ve malondialdehit (MDA) enzim aktiviteleri spektrofotometrik olarak tayin edildi. Çalışmamızda, formaldehit uygulanan siçanlarda SOD, XO ve MDA düzeylerinde kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı bir artışın olduğu tespit edildi. CAT değerlerinde ise, anlamlı bir azalma görüldü. Bu grubun ışık mikroskopik incelemesinde, pulmoner interstisyumda kanama alanları, hemosiderin yüklü makrofajlar ve terminal bronşiolerde epiteliyal dökülmelere rastlandı. Formaldehit maruziyeti ile birlikte omega-3 yağ asiti verilen siçanlarda ise, formaldehit maruziyetinin neden olduğu histolojik değişikliklerin azaldığı tespit edildi. Ayrıca SOD, XO ve MDA düzeylerinde bir azalma olurken, CAT değerlerinde bir artışın olduğu görüldü. Sonuç olarak, siçanlarda formaldehit maruziyeti sonucu akciğer dokusunda oksidatif hasarın oluştuğu ve bu hasarın omega-3 yağ asitleri uygulaması ile önlendiği tespit edildi.

Anahtar kelimeler: Formaldehit, omega-3 yağ asiti, akciğer, siçan

Selçuk Tıp Derg 2004; 20:93-98

SUMMARY

The protective effects of omega-3 fatty acids against of formaldehyde-induced oxidative damage to lungs in rats.

In this study, the toxic effects of formaldehyde to lungs and protective effects of omega-3 fatty acids against these toxic effects were investigated at histological and biochemical levels. For this purpose, 21 adult male Wistar rats were divided into three groups. Rats in group I were used as control. Rats in group II were injected with formaldehyde every other day. Rats in group III daily received omega-3 fatty acids with injection of formaldehyde. At the end of 14-days experimental period, all rats were killed by decapitation. The lung tissue specimens which were taken from the rats were examined under light microscope after performing the routine histological procedures. The activities of superoxide dismutase (SOD), catalase (CAT), xanthine oxidase (XO) and malondialdehyde (MDA) were determined in the lung specimens by using spectrophotometric methods. In our study, in rats whom formaldehyde was given a statistically significant increase in the levels of SOD, XO and MDA was determined when compared to control group. A significant decrease in the level of CAT was also detected. In the light microscopic examination of this group, bleeding areas in interstitium, hemosiderin loaded macrophages and epithelial spiths on terminal bronchiales was observed. It was determined that the histological variances which caused by formaldehyde exposure were decreased in rats whom received omega-3 fatty acids along with formaldehyde. In addition, a decrease in SOD, XO, MDA levels and an increase of CAT levels were determined. As a result, it was determined that damage occurred in lung tissue of rats exposed to formaldehyde, and this damage was prevented by the application of omega-3 fatty acids.

Key words: Formaldehyde, omega-3 fatty acids, lung, rat

Formaldehit (CH₂O) renksiz, keskin kokulu, suda çok iyi çözünen bir aldehittir. Kuvvetli elektrofili özelliği nedeniyle oldukça reaktif bir maddedir ve bulunduğu her ortamdan oda sıcaklığında gaz

haline geçebilir. Kimyasal özellikleri nedeniyle çok yaygın olarak kullanılan, organizmanın doğal yapısında da yer alan kimyasal bir maddedir (1). Formaldehit (FA) vücuda alındıktan sonra

Haberleşme Adresi: Dr. Mustafa SARSILMAZ, Fırat Üniversitesi Tıp Fakültesi Anatomi Anabilim Dalı, ELAZIĞ

Geliş Tarihi : 30.06.2004

Yayına Kabul Tarihi : 10.11.2004 e-posta: msarsilmaz@firat.edu.tr

karaciğerde ve eritrositlerde formaldehit dehidrogenaz enzimi (FDH) katalizörlüğünde formik asite metabolize olur. Vücutta depo edilmeyen FA, ya formik asite dönüşerek idrar ve feçes yoluyla ya da karbondioksite okside olarak solunum yoluyla atılır (2).

Formaldehit mukoz membranlar için yüksek derecede iritan etki göstermektedir. Solunum sistemi üzerine toksik etkisi düşük konsantrasyonlarda bile (0.5 ppm) ortaya çıkmakta (3), 10-20 ppm konsantrasyonları öksürük, nefes darlığı, hırıltılı solunum gibi akciğer semptomlarına neden olmakta, daha yüksek konsantrasyonlarda ise pulmoner ödem, inflamasyon ve pnömoni gelişmektedir (4-6). Doğal ortamlarda maruz kalınan FA'in, erişkinlerde ve özellikle çocuklarda solunum yolu hastalıklarıyla ilişkili olduğu bulunmuştur. Bu bulguları oluşturan spesifik mekanizmalar henüz belirlenmemiş olmasına rağmen, FA'in indirekt olarak solunum epitelini etkileyerek inflamatuvar reaksiyona neden olduğu bildirilmiştir (7-9). Mesleki maruziyetin akciğer kanserinden ölüm oranını artırdığı da belirtilmiştir (10, 11).

Dokozaheksanoik asit (DHA), eikozapentaenoik asit (EPA) ve linolenik asit (ALA) omega-3 (n-3) yağ asitleri olarak bilinir ve balık yağında bol miktarda bulunur. DHA ve EPA uzun zincirli çoklu doymamış yağ asitleri (PUFA) üyelerindedir (12, 13). n-3 yağ asitleri hücre membranının yapısına katılan esansiyel yağ asitleridir ve hücrenin normal fonksiyonlarını sürdürülebilmesi için gereklidir (14, 15). Hücre membranının akışkanlığı ve fleksibilitesi esansiyel yağ asitlerinin membrandaki miktarına bağlıdır. Eikasonoid metabolizması, gen ekspresyonu ve hücre içi haberleşme üzerinde etkili olan omega-3 yağ asitleri, ayrıca hücrenin enerji ihtiyacını sağlar ve vücut ısısının korunmasına yardımcı olur (15). Balık n-3 yağ asitlerinin antiinflamatuvar, antioksidan özelliklerinin olduğu ve özellikle DHA'nın akciğer kanseri riskini azalttığı tespit edilmiştir (16-18). Yapılan çalışmalarda, DHA'nın kardiyovasküler hastalıklar, hipertansiyon, alerjik astma, romatoid artrit, glomerulonefrit gibi hastalıkların tedavisinde kullanılabileceği bildirilmiştir. Ayrıca kolon ve meme kanserinde tedaviye eklenebileceği ifade edilmiştir (18, 19).

Yapmış olduğumuz bu çalışmada ise, sistemik olarak uygulanan FA'in akciğer üzerine toksik etkileri ve bu toksik etkilere karşı n-3 yağ asitlerinin

koruyucu etkisi histolojik ve biyokimyasal metodlarla araştırıldı.

GEREÇ ve YÖNTEM

Çalışmamızda 310-320 gr ağırlığında toplam 21 adet Wistar-Albino cinsi erkek sıçan kullanıldı. Hayvanlar üç gruba ayrıldı. Grup I (n=7)'deki kontrol sıçanlara gün aşırı olarak ve intraperitoneal (i.p) yolla sadece serum fizyolojik enjekte edildi. Grup II (n=7)'deki sıçanlara ise, yine gün aşırı olarak ve serum fizyolojik ile 1/10 oranında sulandırılmış 10 mg/kg dozundaki FA i.p olarak uygulandı. Grup III (n=7)'deki sıçanlara da gün aşırı olarak uygulanan FA'in yanı sıra, 400 mg/kg dozundaki n-3 yağ asiti (Marincap kapsül®) intragastrik gavaj yoluyla günlük olarak verildi. Ondört günlük deney süresi sonunda tüm sıçanlar, dekapitasyon yöntemiyle öldürüldü. Hayvanlardan alınan akciğer doku örneklerinin bir kısmı %10'luk FA ile fikse edildi. Normal histolojik takip serilerinden geçirilerek parafine gömüldü. Parafin bloklardan 5 mikron kalınlığında kesitler alınarak Hematoksilen-eosin ile boyandı ve preparatlar Olympus BH-2 araştırma mikroskopunda incelendi. Biyokimyasal değerlendirmeler için, hızla çıkartılan akciğer doku örnekleri, 0.15 M'lık soğuk (+4°C) potasyum klorür (KCl) ile yıkandı ve kurutma kağıdı ile kurutuldu. Daha sonra dokular homojenizatör ile (Ultra Turrax Type T25-B, IKA Labortechnik, Germany) 0.15 M'lık KCl çözeltisi içinde 16000 rpm'de 3 dakika homojenize edildi. Homojenizasyon bir buz kabının içerisinde gerçekleştirildi. Homojenat 5000xg'de 1 saat (+4°C'de) santrifüjlenerek süpernatant elde edildi ve analiz zamanına kadar (1 hafta) -40°C'de bekletildi. Süperoksit dismutaz (SOD), katalaz (CAT), ksantin oksidaz (XO) enzim aktiviteleri süpernatanda ve malondialdehit (MDA) seviyeleri homojenatta spektrofotometrik olarak tayin edildi.

CAT Tayini: CAT aktivitesi Aebi metoduna göre çalışıldı (20). pH 9.7 glisin tamponunda bakır (Cu) kaplı kadmiyum granülleri deproteinize numune süpernatantı ile 90 dakikalık inkübasyona bırakılarak nitratin redüksiyonu sağlandı. Üretilen nitrit; sülfanilamid ve buna bağlı N-naftiletillen diamin (NNDA) diazotizasyonu ile reaksiyon sonucu oluşan pembe rengin 545nm dalga boyunda spektrofotometrede okunması ile belirlendi.

SOD Tayini: SOD enzimi Sun ve arkadaşlarının (21) modifiye ettiği metotla tayin edildi. Bu metodun

prensibi nitroblue tetrazolium'un (NBT) süperoksit üreticisi olan ksantin-ksantinoksidaz sistemi tarafından indirgenmesi esasına dayanmaktadır. SOD aktivitesi ünite/g doku proteini olarak ifade edildi.

XO Tayini: Doku XO aktivitesi Prajda ve Weber'in (22) metoduna göre ksantinden oluşan ürik asit absorbansının 293 nm dalga boyunda okunmasıyla spektrofotometrik olarak tayin edildi. pH 7.5 ve 37°C'de oluşan 1 mmol ürik asit bir ünite aktivite olarak belirlendi. Sonuçlar ünite/gram protein (U/g protein) olarak ifade edildi.

MDA Tayini: Lipid peroksidasyon ölçüm metodu olan Esterbauer metodu uygulanarak yapıldı (23). Tiyoarbutirik asit ile 90-95 °C'de reaksiyona giren MDA, pembe renkli kromojen oluşturmaktadır. Onbeş dakika sonra hızla soğutulan numunelerin absorbansları 532 nm'de spektrofotometrik olarak okundu. Elde edilen değerler nmol/g protein cinsinden belirtildi.

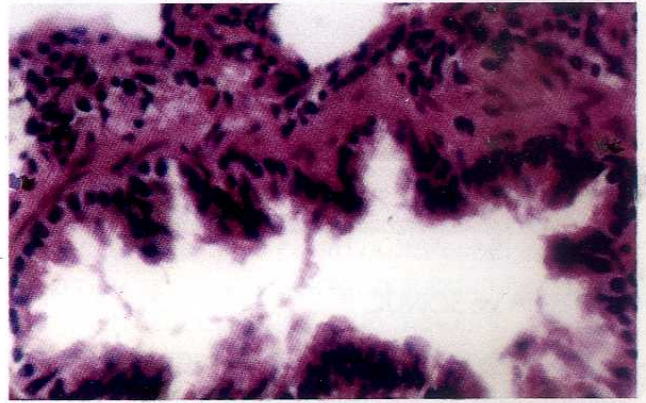
İstatistik Analizi: PC ortamında "SPSS 9.05 for windows" istatistik programı kullanıldı. Grupların dağılımları Non-parametrik testlerden one-sample Kolmogorov-Smirnov Test ile değerlendirildi. Grupların karşılaştırılmasında parametrik testlerden one-way ANOVA testi ve Post Hoc testlerden LSD kullanıldı. İstatistiksel anlamlılık için $p < 0.05$ olan değerler anlamlı kabul edildi.

BULGULAR

Spektrofotometrik olarak akciğer dokusunda SOD, CAT, XO ve MDA enzim değerleri ölçüldü. FA uygulanan sıçanlarda, oksidatif antioksidan enzimlerden olan CAT enzim değerlerinin kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde düştüğü ($p=0.0001$), SOD enzim seviyelerinin ise arttığı görüldü ($p=0.007$). Ayrıca oksidatif hasarı

belirlemede önemli bir parametre olarak alınan MDA ve XO değerlerinin istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde artış gösterdiği tespit edildi ($p=0.0001$). FA maruziyeti ile birlikte n-3 yağ asitleri verilen sıçanlarda ise, CAT enzim düzeylerinde anlamlı bir artış, SOD değerlerinde ise anlamlı bir azalma gözlemlendi. Aynı grubun MDA ve XO miktarlarının ise, istatistiksel olarak anlamlı ($p=0.0001$) bir şekilde azaldığı tespit edildi (Tablo 1).

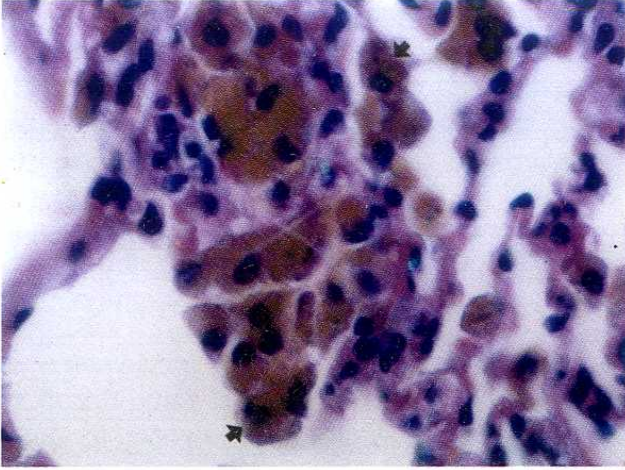
Çalışmamızın ışık mikroskopik incelemelerinde hematoksilen-eosin ile boyanan kontrol grubuna ait akciğer doku kesitlerinin normal görünümde olduğu tespit edildi. Bronş, bronşiol ve alveoller normal yapıda gözlemlendi (Şekil 1). Ondört gün boyunca gün aşırı FA uygulanan sıçanların akciğer dokuları incelendiğinde, pulmoner interstisyumda kanama alanları, hemosiderin yüklü makrofajlar, intrabronşiyal kanamalar ayırt edildi. Ayrıca terminal bronşiolerde epitelial dökülmelere ve makrofajlara rastlandı (Şekil 2, 3, 4). FA maruziyeti ile birlikte n-3 yağ asiti verilen sıçanlarda ise, intrabronşiyal kanama dışında doku yapısının düzeldiği ve kontrol grubuna benzediği saptandı (Şekil 5).



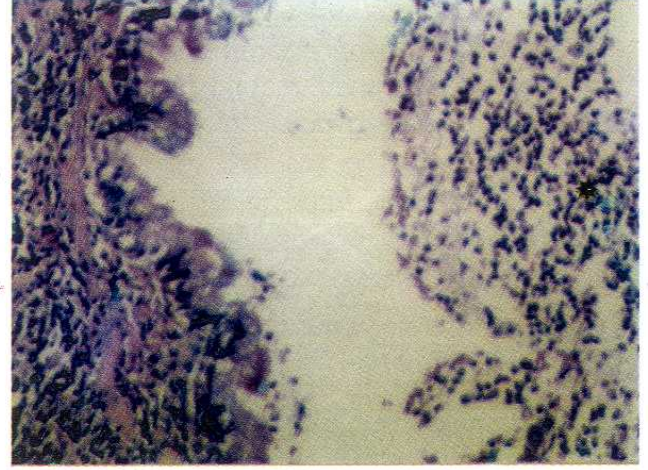
Şekil 1. Kontrol grubuna ait akciğer dokusunun görünümü. Terminal bronşiol (ok) normal yapıda izlenmekte. H.E. X240.

Tablo 1. Gruplara ait süperoksit dismutaz (SOD), katalaz (CAT), ksantin oksidaz (XO) ve malondialdehit (MDA) değerlerinin karşılaştırılması. n: denek sayısı, değerler ortalama \pm SS şeklinde verildi. * $p < 0.05$ (Kontrol grubu ile karşılaştırıldığında); ** $p < 0.05$ (FA grubu ile karşılaştırıldığında).

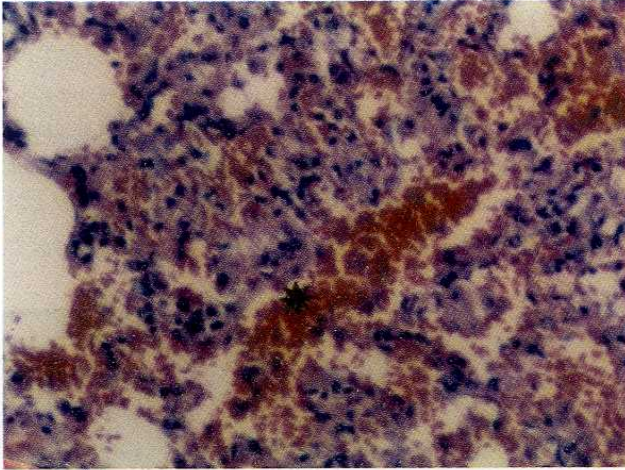
BİYOKİMYASAL PARAMETRELER	Kontrol (n=7)	FA (n=7)	FA + Omega-3 (n=7)
SOD (U/g)	141 \pm 0.01	176 \pm 0.02*	142 \pm 0.02**
CAT (k/g)	0.898 \pm 0.07	0.620 \pm 0.09*	0.854 \pm 0.13**
MDA (nmol/g)	1.320 \pm 0.24	4.577 \pm 0.29*	1.383 \pm 0.13**
XO (U/g)	0.718 \pm 0.11	2.768 \pm 0.14*	0.732 \pm 0.10**



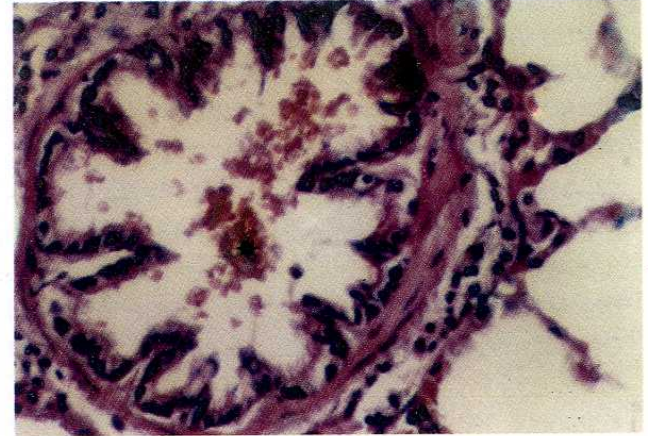
Şekil 2. FA uygulanan sıçanlarda, pulmoner interstisyumda hemosiderin pigmenti yüklü makrofajlar (ok). H.E. X240



Şekil 3. FA verilen sıçanlarda, terminal bronşiol lümeninde epitelyal hücre dökülmesi ve nötrofil hücre infiltrasyonu (yıldız) ayırt edilmekte. H.E. X120..



Şekil 4. FA'e maruz kalan sıçanlarda, pulmoner interstisyumda kanama alanları (yıldız) gözlenmekte. H.E. X120.



Şekil 5. FA maruziyeti ile birlikte n-3 yağ asiti verilen sıçanlarda, intrabronşial kanama (yıldız) haricinde yapıların kontrol grubuna benzediği görülmekte. H.E. X240

TARTIŞMA ve SONUÇ

FA'in santral sinir sistemi, göz, deri, gastrointestinal sistem, testis ve menstrüel fonksiyonlar üzerinde toksik etkilere sahip olduğu bildirilmiştir (24-27). FA nonenzimatik yolla protein, DNA, RNA ve doymamış yağ asitleri ile güçlü bir şekilde birleşme eğilimindedir. Bu birleşme, allerjik reaksiyon, sitotoksosite, genotoksosite, mutajenik ve kanserojenik etkilerin görülmesine neden olmaktadır (1, 2).

Solunum sistemi FA'in düşük konsantrasyonlarından bile etkilenmektedir (3). İnsanların çoğunda ve hayvanlarda, akut olarak düşük doz FA solunmasından sonra üst solunum yollarında inflamatuvar hücre değişiklikleri gözlenmektedir. FA 10-20 ppm seviyelerinde öksürük, nefes darlığı, hırıltılı solunum gibi pulmoner etkilere sebep olmaktadır. Yüksek konsantrasyonda ise larynx'te

ödem ve spazm görülebilir. Pulmoner inflamasyon, ödem ve pnömoni ise 50-100 ppm dozlarında gelişmektedir (4-6). Ayrıca mesleki olarak FA'e maruz kalan işçiler arasında akciğer kanserinden ölüm oranının %30 daha fazla olduğu bildirilmiştir (4, 10, 11).

Organizmada normal fizyolojik şartlarda veya herhangi bir patolojik olay sonucunda oluşan serbest radikaller ile bunların koruyucusu olan antioksidan savunma sistemi arasındaki dengenin serbest radikaller lehine kayması oksidatif stresi gösterir. Canlılar oksidatif hasara karşı enzimatik ve nonenzimatik antioksidan sistem ve moleküllerle korunur. Hücre seviyesinde etkili olan enzimatik antioksidan sistemler içerisinde CAT, SOD yer alır (28). Teng ve arkadaşları (29) izole sıçan hepatositlerinde yaptıkları deneysel çalışmada, FA'nın düşük konsantrasyonlarının bile oksidatif hasara yol

açtığıını bildirmişlerdir. Sarsılmaz ve arkadaşları (30), solunum yoluyla uyguladıkları FA'in karaciğer dokusunda CAT aktivitesini azalttığını, SOD aktivitesini ise arttırdığını tespit etmişlerdir. Benzer şekilde biz de yapmış olduğumuz bu çalışmada, FA'e maruz kalan sıçanların akciğer dokusunda CAT enzim düzeylerinin azaldığını, SOD aktivitesinin ise arttığını tespit ettik. SOD, süperoksit radikallerini hidrojen peroksit (H_2O_2) ve moleküler oksijene çevirir. Çalışmamızda FA uygulamasından dolayı akciğer dokusunda süperoksit radikalleri artmış olabilir. Buna bağlı olarak SOD enziminin aktivitesinde de artış meydana gelir. SOD enzim aktivitesinin artmasıyla da ortamda H_2O_2 miktarı artacaktır. H_2O_2 , CAT ve glutatyon peroksit (GSH-Px) enzimleri tarafından suya çevrilerek ortamdan uzaklaştırılır. CAT enzim aktivitesindeki azalma ise, FA'in etkisiyle CAT enzim proteininin yapısındaki değişiklik ya da sentezinin azalmasından dolayı olabilir. Ayrıca ortamda artan H_2O_2 fenton reaksiyonu ile güçlü bir oksidan olan hidroksil radikale (OH) çevrilmiş olabilir. Bu radikal de membran lipidlerinden olan esansiyel çoklu doymamış yağ asitlerinin oksidasyonu nedeniyle MDA düzeyinde artışa neden olmuş olabilir.

MDA lipid peroksidasyonu sonucu oluşan ürünlerden biridir ve oksidatif hasarı göstermede yaygın olarak kullanılan bir parametredir (28). Kamal ve arkadaşları (31) yaptıkları çalışmada silica ve asbeste maruz kalan işçilerde MDA düzeyinin anlamlı bir şekilde arttığını bildirmişlerdir. Yapmış olduğumuz bu çalışmada da, FA'e maruz kalmış akciğer dokusundaki XO ve MDA aktivitelerinin istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde arttığı görüldü. MDA düzeyindeki bu artış, FA'in akciğer dokusunda lipid peroksidasyonuna ve doğal olarak oksidatif hasara yol açtığını ortaya koymuştur.

Çalışmamızda, FA uygulanan sıçanların akciğer dokusu ışık mikroskopik olarak incelendiğinde, pulmoner interstisyumda kanama alanları ve hemosiderin yüklü makrofajların görülmesi, intrabronşial kanamanın ve terminal bronşiolde epitelyal dökülmelerin meydana gelmesi FA'in akciğer dokusunda hasara yol açtığını göstermektedir. Jakab ve arkadaşları (32) ise, kemirgenler üzerinde yaptıkları çalışmada solunum yoluyla uygulanan FA'in akciğerlerin savunma sistemini bozarak enfeksiyona zemin hazırladığını bildirmişlerdir.

DHA, EPA ve ALA n-3 yağ asitleri olarak bilinir. n-3 yağ asitleri balık yağında bol miktarda bulunmaktadır (12). Stone ve arkadaşları (33) ile Miyasaka arkadaşları (34) yaptıkları çalışmalarda, n-3 yağ asitlerinin antioksidan, antiinflamatuvar, antihipertansif özelliklere sahip olduğunu ve bu nedenle organizma için koruyucu özellik gösterdiğini ifade etmişlerdir. Özellikle beyin, retina ve diğer nöral dokularda yoğun olarak bulunan ve hücre membranının yapısına katılan DHA, sinir sisteminin gelişiminde önemli rol oynar. DHA, aksonal yapıyı koruyarak elektriksel uyarıların düzgün olarak iletilmesine de katkıda bulunur (12, 14).

Biyomembranlar ve hücre içi organeller membran fosfolipitlerindeki PUFA varlığı nedeniyle oksidatif ataklara duyarlıdır. PUFA hücre fonksiyonunun yapılabilmesi ve özellikle hücre membranı, endoplazmik retikulum ve mitokondri gibi hayati organeller için gereklidir. Ayrıca diyetle n-3 yağ asitlerinin eklenmesi, insanda akciğer mukoeptidermoid CA ve diğer kanser gelişimini önlediği bildirilmiştir. Ancak n-3 yağ asitlerinin, oksidatif süreç içine giren akciğer dokusunda azalmaya yüz tutmuş PUFA yeri-ne geçmek suretiyle koruyucu etkisini gösterdiği ileri sürülmüştür (17, 31, 35).

Çalışmamızda da, akciğer dokusunda FA maruziyetine bağlı olarak oluşan hasarın n-3 yağ asitleri tarafından önlendiğini gösteren bulgular tespit edildi. Yani, FA maruziyeti ile birlikte n-3 yağ asitleri verilen sıçanlarda, MDA ve XO seviyelerinin azaldığı, CAT ve SOD enzim düzeylerinin ise, kontrol grubu seviyesine geldiği bulundu. Ayrıca bu gruba ait akciğer dokusunun histolojik incelenmesinde, intrabronşial kanama dışında doku yapısının düzeldiği ve kontrol grubuna benzediği saptandı.

Sonuç olarak, FA maruziyetinin akciğer dokusunda hasara yol açtığı ve bu hasara karşı n-3 yağ asitlerinin koruyucu etki gösterdiği tespit edildi.

KAYNAKLAR

1. Smith AE. Formaldehyde. *Occup Med* 1992;42:83-8.
2. Usanmaz SE, Akarsu ES, Vural N. Neurotoxic effects of acute and subacute formaldehyde exposures in mice. *Envir Toxicol Pharmacol* 2002;11:93-100.
3. Occupational Safety and Administration. Preliminary assessment on the health effects of formaldehyde. *Occup Safety and Health Rep* 1984;14:476-83.
4. Blair A, Stewart PA, Hoover RN. Mortality from lung cancer among workers employed in formaldehyde industries. *Am J Ind Med* 1990;17:683-99.
5. Heck H, Casanova M. Pharmacodynamics of formaldehyde: Applications of a model for the arrest of DNA replication by DNA-protein cross-links. *Toxicol Appl Pharmacol* 1999;160:86-100.
6. Kriebel D, Myers D, Cheng M, Woskie S, Cocanour B. Short term effect of formaldehyde on peak expiratory flow and irritant symptoms. *Arch Environ Health* 2001;56:11-8.
7. Franklin P, Dingle P, Sticks S. Reised exhaled nitric oxide in healthy children is associated with domestic formaldehyde levels. *Am J Respir Crit Care Med* 2000;161:1757-59.
8. Özen O, Sarsılmaz M. Solunan havadaki formaldehit toksitesi ve alınması gereken önlemler. *Fırat Tıp Dergisi* 2000;2:6-12.
9. Riedel F, Hasenauer E, Barth PJ, Koziorowski A, Rieger CH. Formaldehyde exposure enhances inhalative allergic sensitization in the guinea pig. *Allergy* 1996;51:94-99.
10. Halperin WE, Goodman M, Stayner L, Elliot LJ, Keenlyside RA, Landrigan PJ. Nasal cancer in a worker exposed to formaldehyde. *JAMA* 1983;249:510-12.
11. Hayes RB, Raatgever JW, de Bruyn A, Gerin M. Cancer of the nasal cavity and paranasal sinuses and formaldehyde exposure. *Ind J Cancer* 1986;37:487-92.
12. Sarsılmaz M, Songur A, Özyurt H, Kuş İ, Özen OA, Özyurt B. Potential role of dietary w-3 fatty acids on some oxidant/antioxidant parameters in rats' corpus striatum. *Prostaglandins Leukot Essent Fatty Acids* 2003;69:253-59.
13. Nordoy A. Is there a rational use for n-3 fatty acids (fish oils) in clinical medicine? *Drugs* 1991;42:331-42.
14. Bourre JM, Bonneil M, Chaudiere J, Clement M, Dumont O, Durand G. Structural and functional importance of dietary polyunsaturated fatty acids in the nervous system. *Adv Exp Med Bio* 1992;318:211-29.
15. Masters C. Omega-3 fatty acids and the peroxisome. *Mol Cell Biochem* 1996;165:83-93.
16. Stroup NE, Blair A, Erikson GE. Brain cancer and other causes of deaths in anatomists. *J Natl Cancer Inst* 1986;77:1217-24.
17. Takezaki T, Inoue M, Kataoka H, Ikeda S, Yoshida M, Ohashi Y et al. Diet and lung cancer risk from a 14-year population-based prospective study in Japan: with special reference to fish consumption. *Nutr Cancer* 2003;45:160-67.
18. Sarsılmaz M, Yılmaz HR, Songur A, Özdemir Türkoğlu A, Akyol Ö. Balık omega-3 yağ asitlerinin sıçan testisinde bazı metabolik enzim aktiviteleri üzerine etkisi. *Fırat Tıp Dergisi* 2003;8:83-6.
19. Yılmaz HR, Songur A, Özyurt B, Zararsız İ, Sarsılmaz M. The effects of n-3 polyunsaturated fatty acids by gavage on some metabolic enzymes of rat liver. *Prostaglandins, Leukotrienes and Essential Fatty Acids* 2004;1-5.
20. Aebi H. Catalase In: Bergmeyer U, ed. *Methods of enzymatic analysis*. New York and London: Academic Press; 1974;p. 673-77.
21. Sun Y, Oberley LW, Li Y. A simple method for clinical assay of superoxide dismutase. *Clin Chem* 1988;34:497-500.
22. Prajda N, Weber G. Malignant transformation-linked imbalance: decreased xanthine oxidase activity in hepatomas *FEBS Lett* 1975;59:245-49.
23. Esterbauer H, Cheeseman KH. Determination of aldehydic lipid peroxidation products: malonaldehyde and 4-hydroxynonenal. *Methods Enzymol* 1990;186:407-21.
24. Kilburn KH, Warsaw R, Thornton JC. Formaldehyde impairs memory, equilibrium, and dexterity in histology technicians: effects which persist for days after exposure. *Arch Environ Health* 1987;42:117-20.
25. Sarsılmaz M, Özen OA. Subkronik dönem boyunca formaldehit soluyan sıçanların leydig hücrelerindeki histopatolojik değişiklikler. *Fırat Tıp Dergisi* 2000;2:1-5.
26. Nilsson JA, Zheng X, Sundqvist K, Liu Y, Atrozi L, Elfving A. Toxicity of formaldehyde to human oral fibroblast and epithelial cells: influences of culture conditions and role of thiol status. *J Dent Res* 1998;77:1896-1903.
27. Thrasher JD, Kilburn KH. Embryo toxicity and teratogenicity of formaldehyde. *Arch Environ Health* 2001;56:300-11.
28. Akyol Ö. Beyin tümörlerinde doku SOD, CAT ve GSH-Px aktiviteleri. Uzmanlık tezi, Ankara: Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi, Biyokimya Bölümü, 1994.
29. Teng S, Beard K, Pourahmad J, Moridani M, Easson E, Poon R. The formaldehyde metabolic detoxification enzyme systems and molecular cytotoxic mechanism in isolated rat hepatocytes. *Chem Biol Interact* 2001;130-132:285-96.
30. Sarsılmaz M, Özen OA, Özyurt H. Subakut ve subkronik formaldehit inhalasyonundan sonra sıçanlarda karaciğer enzimatik antioksidan sistemin değerlendirilmesi. *Van Tıp Dergisi* 2000;7:84-9.
31. Kamal AA, Gomaa A, el Khaffif M, Hammad AS. Plasma lipid peroksidasi among workers exposed to silica or asbestos dust. *Environ Res* 1989;49:173-80.
32. Jakab GJ, Risby TH, Hemenway DR. Use of physical chemistry and in vivo exposure to investigate the toxicity of formaldehyde bound to carbonaceous particles in the murine lung. *Res Rep Health Eff Inst* 1992;53:1-39.
33. Stone NJ. Fish consumption, fish oil, lipids, and coronary heart disease. *Am J Clin Nutr* 1997;65:1083-86.
34. Miyasaka CK, Alves de Souza JA, Torres RP, Mancili FJ, Lajolo FM, Curi R. Effect of the administration of fish oil by gavage on activities of antioxidant enzymes of rat lymphoid organs. *Gen Pharmacol* 1998;30:759-62.
35. Halliwell B. Free radicals antioxidants and human disease; curiosity, cause or consequence? *Lancet* 1994;344:721-24.